Aus dem Pharmakologischen Institut der Martin Luther-Universität
Halle-Wittenberg
Direktor i. V.: Prof. Dr. med. Otto Geßner

Zur Pharmakologie einiger Triazoliumverbindungen I.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Erhart Schulze
appr. Zahnarzt aus Mitteldorf im Erzgebirge

Halle (Saale), 1936

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Straße 14

Aus dem Pharmakologischen Institut der Martin Luther-Universität
Halle-Wittenberg
Direktor i. V.: Prof. Dr. med. Otto Geßner

Zur Pharmakologie einiger Triazoliumverbindungen I.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Erhart Schulze
appr. Zahnarzt aus Mitteldorf im Erzgebirge

Halle (Saale), 1936

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Straße 14

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Referent: Prof. Dr. med. O. Geßner

Korreferent: Geh. Med. Rat Prof. Dr. E. Abderhalden

Meinen lieben Eltern!

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung . . . . . 7—8

II. Experimenteller Teil . . . . . 9—20

1. Vorbemerkungen . . . . . 9—10
2. Bestimmung der Toxizität der Triazoliumverbindungen . . . . . 10—14
   a. an Frőschen, ... 10
   b. an Mäusen, ... 10—11
   c. an Meerschweinchen, ... 11
   d. an Kaninchen, ... 11
   e. Zusammenstellung über die Toxizität. . . . . 11—14
3. Wirkungsbild an Frőschen, Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen nach parenteraler Zufuhr der Triazoliumverbindungen: . . . . . 14—18
   a. α—β—Naphtho—2,3—diphenyl-triazoliumverbindung 14—15
   b. α—β—Naphtho—1,3—dimethyl-triazoliumverbindung 15—16
   c. α—β—Naphtho—2,3—dimethyl-triazoliumverbindung . 16
   d 1,2—Dimethyl-benzo-triazoliumverbindung . . . 17
   e. 1.3—Dimethyl-benzo-triazoliumverbindung . . 17—18
   f. Zusammenfassung zu 3a—3e. 18
4. Prüfung auf analgetische Wirkung: 18—20
   a. an Mäusen, ... 19
   b. an Meerschweinchen. 19

III. Besprechung der Versuchsergebnisse . . 20

IV. Zusammenfassung . . . . . 20—21

I. Einleitung.

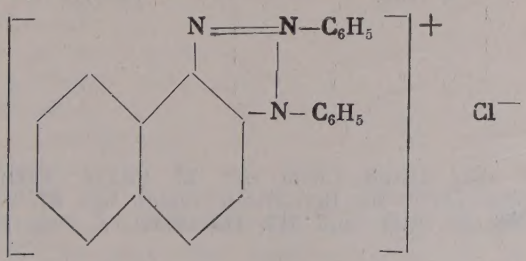
Binz hat auf Veranlassung und laut Mitteilung von Zincke[1]) das α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium-chlorid einer kurzen pharmakologischen Prüfung unterzogen. Bei diesen an Landfröschen, Kaninchen und an einem Hunde ausgeführten Untersuchungen erwies sich das geprüfte Triazoliumsalz als verhältnismäßig giftig. Binz schließt aus seinen orientierenden Versuchen, daß die dem geprüften Salz zugrundeliegende Triazoliumbase „zuerst und hauptsächlich auf das Großhirn wirkt und zwar rein lähmend".

In neuerer Zeit hat sich F. Krollpfeiffer[2]) gelegentlich seiner Untersuchungen über die Ausbleichvorgänge bei Aryl-α-β-naphthylaminoazofarbstoffen eingehend mit der Chemie der Triazoliumsalze beschäftigt.

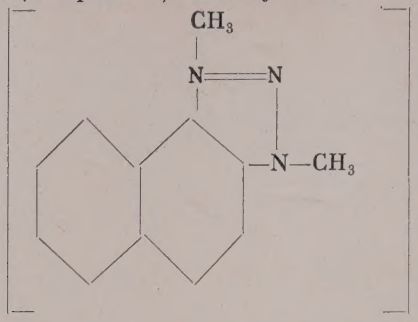
Da die pharmakologischen Untersuchungen von Binz nur orientierenden Charakter hatten und sich im übrigen nur auf das α-β-Naphtho-2,3-diphenyltriazoliumchlorid bezogen, schien eine eingehende pharmakologische Untersuchung der von Krollpfeiffer chemisch bearbeiteten Triazoliumverbindungen um so eher angebracht, als es auf Grund der Versuche von Binz möglich sein konnte, in dieser Gruppe von Stoffen ein Pharmakon mit spezifisch großhirnlähmender, vielleicht sogar morphinähnlicher Wirkung zu finden.

Zur Untersuchung gelangten die folgenden Triazoliumverbindungen:

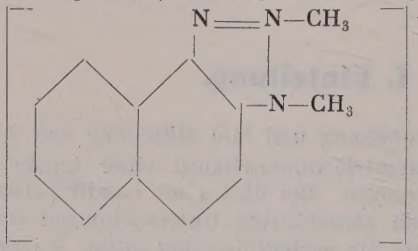
1. α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium-chlorid.



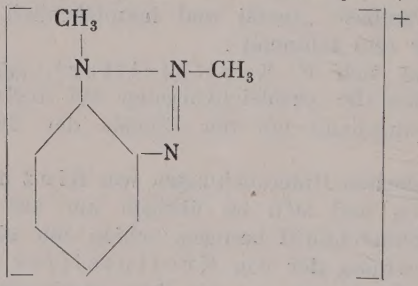
2. α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium-jodid, bezw. -chlorid.



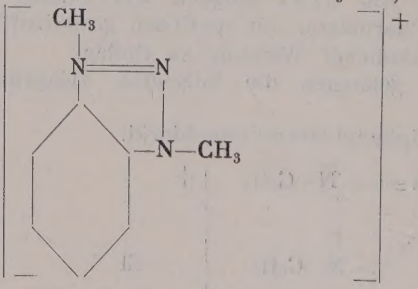
3. α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium-jodid, bezw. -chlorid.



4. 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium-jodid, bezw. -chlorid.



5. 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium-jodid, bezw. -chlorid.



---

[1]) Zincke Ber. Dtsch. Chem. Ges. **23.** 1315 ff. (1890).

[2]) Krollpfeiffer, F.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **67.** 908. (1934); Liebigs Analen **508.** 39 (1933) und **515.** 113 (1935); Z. Ang. Chem. **47.** 350 (1934).

II. Experimenteller Teil.

1. Vorbemerkungen.

Die Untersuchungen wurden an Fröschen, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen ausgeführt und erstreckten sich nicht nur auf die Ermittlung der minimal tödlichen Dosis (D. l. m.) und der eben wirksamen Dosis (Dos. efficax), sondern auch auf die Feststellung des Wirkungsbildes der einzelnen Verbindungen bei den verschiedenen Tierarten. Außerdem wurde nach der vermuteten morphinähnlichen, schmerzstillenden Wirkung gefahndet. Insgesamt wurden 294 Einzelversuche ausgeführt.

Die α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazoliumverbindung wurde bei allen Tieren nur als Chlorid gegeben, dagegen wurden die übrigen vier Triazoliumverbindungen bei den Versuchen an Mäusen und Fröschen als Jodide und bei den Versuchen an Kaninchen und Meerschweinchen als Chloride verwendet. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, daß mir zunächst von den vier letztgenannten Triazoliumverbindungen nur die gut kristallisierenden und schwerer löslichen Jodide zur Verfügung standen, während die Chloride erst später zwecks Herstellung höherer Konzentrationen aus den Jodiden durch Umsetzung mit äquivalenten Mengen von Silberchlorid in 10 %iger Lösung gewonnen wurden. Da die Molekulargewichte der Jodide und Chloride erheblich voneinander abweichen, wurden die in den Tierversuchen verwendeten Mengen der gegebenen Salze sämtlich auf Base umgerechnet, um einwandfreie Vergleichswerte zu erhalten.

Zu allen Versuchen wurden nur mit Ringer angesetzte Lösungen der Triazoliumverbindungen verwendet. Die Präparate wurden auf der analytischen Waage abgewogen und in Maßkölbchen mit Ringerlösung zu den gewünschten Konzentrationen gelöst. Von den durch Umsetzung gewonnenen Chloridstammlösungen wurden Lösungen mit geringeren Konzentrationen volumetrisch genau hergestellt. Die Lösungen wurden vor der Injektion frisch angesetzt und im Eisschrank vor Zersetzung geschützt. Ferner wurden sie, namentlich bei intravenöser Injektion, sorgfältig filtriert. Zur Einspritzung selbst dienten Ganzglasspritzen (Liebergspritzen) von $^1/_4$ ccm, $^1/_2$ ccm, 1,0 ccm und Tuberkulinspritzen von 2,0 ccm und 5,0 ccm. Die $^1/_4$ ccm-Spritze gestattete, selbst bei Berücksichtigung nur der ganzen Teilstriche, $^1/_{200}$ ccm abzulesen. Zur intravenösen Injektion in die Schwanzvenen der Mäuse dienten ganz feine Injektionsnadeln (Nr. 18 und Nr. 20), während zu den anderen Injektionen der Tierart entsprechend stärkere

Nadeln verwendet wurden. Aus den absoluten Mengen der eingespritzten Triazoliumverbindungen wurden mit Hilfe der Tiergewichte die Werte für Salz g/kg, Base g/kg und mol/kg Tier errechnet.

2. Bestimmung der Toxizität der Triazoliumverbindungen.

Die Dosis letalis minima wurde bei subkutaner Injektion der Triazoliumverbindungen in Versuchsreihen an Fröschen (Bauchlymphsack), Mäusen und Meerschweinchen bestimmt, während bei intravenöser Zufuhr die Bestimmung an weißen Mäusen und Kaninchen zur Durchführung kam.

a) an Fröschen.

Um die Toxizität an Fröschen zu bestimmen, wurden Landfrösche (Rana temporaria) benutzt. Dem Versuchstier wurde zunächst der Harn abgepreßt und dann die Haut getrocknet. Es wurden abgewogene Frösche genommen, welche zwischen 26 und 40 g wogen. Die Einspritzung erfolgte in den Bauchlymphsack. Für eine einigermaßen genaue Bestimmung der Toxizität war es nötig, für jede Triazoliumverbindung etwa 10 Frösche, welche annähernd das gleiche Gewicht hatten, mit verschiedenen Dosen zu injizieren. — Da diesen Versuchen über die Toxizität an Fröschen im Gang der experimentellen Arbeiten im Gegensatz zur vorliegenden Darstellung dieselben Versuche an Mäusen vorausgegangen waren, konnte die tödliche Dosis ungefähr geschätzt werden; es waren daher nur so wenig Frösche zur Bestimmung der Dos. let. min. nötig.
Die Dos. let. min. betrug von:

α-β-Naphtho-2,3-diphenyltriazolium-chlorid	(0,2 %)	= 0,045 g/kg,
α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium-jodid	(0,5 %)	= 0,078 g/kg,
α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium-jodid	(0,8 %)	= 0,168 g/kg,
1,2-Dimethyl-benzo-triazolium-jodid	(10 %)	= 0,38 g/kg,
1,3-Dimethyl-benzo-triazolium-jodid	(2,0 %)	= 0,25 g/kg.

b) an weißen Mäusen.

Bei der Bestimmung der Toxizität an weißen Mäusen wurden die Tiere am Abend vor der Injektion in Einzelhaft und ohne Futter gesetzt. Den Tieren wurde vor dem Abwiegen der Harn abgepreßt. Verwendet wurden nur Mäuse, welche ein Gewicht von 18 bis 24 g aufwiesen und zwar wurden diese bis auf $^1/_{20}$ g genau ausgewogen. Innerhalb der einzelnen Versuchsreihen wurde darauf geachtet, daß die Tiere in ihrem Gewicht nicht mehr als 2 g voneinander abwichen. Die intravenöse Injektion erfolgte in eine seitliche Schwanzvene, während subkutan in die Mitte des Rückens eingespritzt wurde.

Um festzustellen, welche Dosis der 5 Triazoliumverbindungen überhaupt noch Vergiftungserscheinungen hervorruft (Dosis efficax), wurden ebenfalls weiße Mäuse, sowohl subkutan als auch intravenös, gespritzt. Bei beiden Injektionsarten wurden je etwa 15 Tiere für jede Triazoliumverbindung verwendet. — Als „Wirkungsquotient" bezeichne ich das Verhältnis der Dos. let. min. zur Dosis efficax. Aus Tabelle 1 sind die Werte hierfür ersichtlich. Im übrigen sind die Werte in Tabelle 1 abgerundet, die genauen Werte stehen in Tabelle 2.

Tabelle 1.

Triazoliumverbindung	Art der Injektion	Konzentr. d. Lösung	Dos. let. min. g/kg	Dosis efficax	„Wirkungsquotient"
α-β-Naphtho-2,3-diphenyltriazoliumchlorid	subkutan	0,1%	0,003	0,0009	3,3
	intraven.	0,01%	0,002	0,0002	10,0
α-β-Naphtho-1,3-dimethyltriazoliumjodid	subkutan	1,0%	0,1	0,03	3,3
	intraven.	1,0%	0,06	0,008	7,5
α-β-Naphtho-2,3-dimethyltriazoliumjodid	subkutan	1,0%	0,06	0,03	2,0
	intraven.	0,2%	0,05	0,02	2,5
1,2-Dimethyl-benzotriazoliumjodid	subkutan	1,0%	0,44	0,12	3,7
	intraven.	1,0%	0,1	0,04	2,5
1,3-Dimethyl-benzotriazoliumjodid	subkutan	1,0%	0,32	0,11	2,9
	intraven.	1,0%	0,13	0,04	3,2

c) an Meerschweinchen.

Die für die Maus ermittelten kleinsten tödlichen Dosen gaben für die Werte bei subkutanen Injektionen an Meerschweinchen wichtige Anhaltspunkte. Es wurden, da hier höhere Konzentrationen notwendig waren, die Chloride der Triazoliumverbindungen gegeben. Die Dosis letalis minima betrug bei mittelschweren Meerschweinchen von:

α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazoliumchlorid (1 %) = 0,012 g/kg
α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazoliumchlorid (2 %) = 0,068 g/kg
α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazoliumchlorid (0,8 %) = 0,07 g/kg
1,2-Dimethyl-benzo-triazoliumchlorid (10 %) = 0,24 g/kg
1,3-Dimethyl-benzo-triazoliumchlorid (10 %) = 0,13 g/kg

d) an Kaninchen.

Da die tödlichen Dosen bei zwei Warmblütern (Maus und Meerschweinchen) bekannt waren, genügten bei der intravenösen Einspritzung an Kaninchen für jede Triazoliumverbindung schon 4 bis 8 Tiere, um die fragliche Dosis zu bestimmen. Die Injektion erfolgte in eine Ohrvene. Zwecks Ersparnis an Substanz wurden möglichst kleine Tiere benutzt und auf die Ermittlung der Dos. let. min. bei subkutaner Injektion ganz verzichtet. Es wurden Lösungen der Chloride der Triazoliumverbindungen verwendet.

Die Dosis letalis minima betrug von:

α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazoliumchlorid (1 %) = 0,04 g/kg
α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazoliumchlorid (2 %) = 0,11 g/kg
α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazoliumchlorid (0,8 %) = 0,072 g/kg
1,2-Dimethyl-benzo-triazoliumchlorid (5 %) = 0,1 g/kg
1,3-Dimethyl-benzo-triazoliumchlorid (10 %) = 0,097 g/kg

e) Zusammenstellung über die Toxizität.

Um eine Übersicht über die mit den verschiedenen Triazoliumverbindungen an den vier Tierarten ermittelten Werte der Dos. let. min. zu haben und außerdem einen Vergleich zwischen den gefundenen Werten zu bekommen, habe ich in diesem Abschnitt die unter 2 a—2 d

ermittelten Ergebnisse in der unten folgenden Tabelle 2 zusammengestellt. Zum Verständnis der Tabelle 2 ist vorauszuschicken, daß zur Erleichterung der Übersicht die Konzentrationen der Lösungen nicht angegeben wurden. Diese Werte finden sich in den Zusammenstellungen am Ende der Abschnitte 2a—2d. Die Werte für die Dos. let. min. sind in den Spalten 4, 5 und 6 absichtlich dreimal aufgeführt und zwar in Spalte 4 die Werte für die Salze (Triazoliumjodid, bezw. Triazoliumchlorid) in g/kg, in Spalte 5 die Werte für die Basen in g/kg und in Spalte 6 die Werte für die Basen in mol/kg Tier. Aus der oben schon angeführten erheblichen Verschiedenheit der Molekulargewichte der Jodide und Chloride der Verbindungen ergibt sich, daß in Spalte 4 nur Chloride mit Chloriden und Jodide mit Jodiden verglichen werden dürfen, und daß ein Vergleich aller untersuchten Verbindungen nur in Spalte 5 (g Base/kg) und noch besser in Spalte 6 (mol Base/kg) möglich ist. — Obwohl an den Fröschen die Einspritzungen in den Bauchlymphsack erfolgten, sind sie aus praktischen Gründen in den Spalten, in denen die Werte der subkutanen Injektionen stehen, angegeben.

Tabelle 2.

1		2		3	4		5		6	
Triazolium-verbindung	Natur des Salzes	Molekular-Gewicht des Salzes	Molekular-Gewicht der Base	Tierart	Dos. let. min. g Salz/kg subk.	Dos. let. min. g Salz/kg i. v.	Dos. let. min. g Base/kg subk.	Dos. let. min. g Base/kg i. v.	Dos. let. min. mol Base/kg subk.	Dos. let. min. mol Base/kg i. v.
α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium-	chlorid	357,61	322,15	Frosch	0,045		0,0405		0,00011	
				Maus	0,0028	0,0024	0,0025	0,0021	0,000007	0,000006
				Meers.	0,012		0,0105		0,00003	
				Kanin.		0,04		0,0358		0,00009
α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium-	jodid	327,04	200,12	Frosch	0 078		0,078		0,00015	
				Maus	0,111	0,0595	0,068	0,0367	0,0002	0,00011
	chlorid	235,58	200,12	Meers.	0,0682		0,058		0,00025	
				Kanin.		0,109		0,0926		0,00039
α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium-	jodid	327,04	200,12	Frosch	0,168		0,1028		0,0003	
				Maus	0,06	0,0547	0,037	0,0336	0,0001	0,0001
	chlorid	235,58	200,12	Meers.	0,0718		0,061		0,00026	
				Kanin.		0,072		0,061		0,00026
1,2-Dimethyl-benzo-triazolium-	jodid	275,07	148,15	Frosch	0,38		0,2039		0,00078	
				Maus	0,136	0,105	0,236	0,05655	0,00086	0,0002
	chlorid	183,61	148,15	Meers.	0,237		0,192		0,00104	
				Kanin.		0,101		0,0817		0,00044
1,3-Dimethyl-benzo-triazolium-	jodid	275,07	148,15	Frosch	0,25		0,1346		0,00048	
				Maus	0,316	0,127	0,171	0,0686	0,00062	0,00025
	chlorid	183,61	148,15	Meers.	0,132		0,106		0,00057	
				Kanin.		0,097		0,0783		0,00042

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß die 5 geprüften Triazoliumverbindungen eine verschieden hohe Toxizität besitzen.

Von allen ist das α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium bei weitem die giftigste Substanz. Auffallend ist, daß von den Warmblütern die Mäuse am empfindlichsten sind. Hier beträgt die Dos. let. min. bei subkutaner Einspritzung nur $^{7}/_{1000}$ Millimol. Auch beim Meerschweinchen (subkuten) und beim Kaninchen (intravenös) ist das α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium mit rund $^{3}/_{100}$ Millimol/kg Tier noch erheblich giftig. Beim Frosch (Bauchlymphsack) dagegen sind bedeutend größere Gaben nötig.

Bei den 4 anderen Triazoliumverbindungen, bei denen es sich um je 2 Isomere handelt, liegen die Verhältnisse anders, sie sind alle weniger giftig als das α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium. Ein Vergleich zwischen den α-β-Naphtho-dimethyl-triazoliumverbindungen zeigt, daß die erstgenannten z. B. bei der intravenösen Injektion an der Maus rund doppelt so giftig sind als die Dimethyl-benzo-triazoliumverbindungen. Bei der subkutanen Einspritzung sind die beiden α-β-Naphtho-dimethyl-triazoliumverbindungen sogar dreimal giftiger als die Dimethyl-benzo-triazoliumverbindungen.

Bei den zwei α-β-Naphtho-dimethyl-triazoliumverbindungen sieht man insofern einen Unterschied, als für die Maus, bei der ja die Werte durch zahlreiche Versuche genau festgestellt werden konnten, das α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium bei subkutaner Einspritzung halb so giftig ist wie das α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium, während bei intravenöser Injektion beide fast dieselbe Toxizität aufweisen. Bei den Versuchen an Kaninchen erwies sich das α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium $^{1}/_{3}$ mal so giftig wie das α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium.

Ein Vergleich zwischen den isomeren Dimethyl-benzo-triazoliumverbindungen ergibt, daß bei intravenöser und bei subkutaner Einspritzung an Mäusen das 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium um $^{1}/_{5}$ bezw. $^{1}/_{4}$ giftiger ist als das 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium, daß also praktisch kein Unterschied in der Wirksamkeit gefunden wurde, wogegen die Versuche an Meerschweinchen ergaben, daß das 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium etwa doppelt so giftig ist wie das 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium. Bei der intravenösen Injektion am Kaninchen ließ sich fast keine Verschiedenheit beider isomeren Verbindungen nachweisen. Da somit sowohl bei der Maus als auch beim Kaninchen intravenös kein Unterschied beider Isomeren festgestellt werden konnte, dürfte anzunehmen sein, daß die Differenzen bei den Werten an Meerschweinchen darauf zurückzuführen sind, daß die Resorption subkutan zu langsam vor sich ging und die Wirkung des anscheinend weniger giftigen Isomeren dadurch abgeschwächt wurde.

Um einen Vergleich aller 5 Triazoliumverbindungen untereinander zu haben, seien die Werte der Dos. let. min. bei intravenöser Einspritzung an der Maus nochmals angeführt. Da sich bei den Versuchsreihen das 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium als die am wenigsten giftige Verbindung erwies, so ist ein Vergleich mit ihr zu den 4 anderen Triazoliumverbindungen am ersten gegeben. Die Dos. let.

min. des 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium beträgt 0.25 Millimol/kg Tier. Das 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium ist um etwa $^1/_5$ giftiger, das α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium ungefähr doppelt so giftig, das α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium etwas mehr als doppelt so giftig und das α-β Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium ungefähr 30 mal so giftig.

Von allen 5 Triazoliumverbindungen ist somit zu sagen, daß sie um so stärker wirken, je größer ihre Molekulargewichte sind.

3. Wirkungsbild an Fröschen, Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen nach parenteraler Zufuhr der Triazoliumverbindungen.

a) α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazoliumverbindung.

Von den zu untersuchenden Triazoliumverbindungen erwies sich, wie aus Tabelle 2 hervorgeht, das α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium-chlorid als die giftigste.

Untersuchungen an Fröschen, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen ergaben bei subkutanen und intravenösen Einspritzungen Vergiftungserscheinungen, welche für alle behandelten Tiere charakteristische Merkmale aufwiesen:

Kurz nach der Einspritzung waren die Tiere stark erregt, atmeten schnell und tief. Danach verminderte sich die Atemfrequenz beträchtlich. Die Tiere zeigten starke Benommenheit, saßen teilnahmslos da, ohne daß die Reflexerregbarkeit beeinträchtigt war. Im Laufe der Vergiftungserscheinungen nahm die Atemfrequenz beträchtlich und stetig ab, sodaß z. B. bei Mäusen die geringe Frequenz von 50 pro Minute bei Tieren, welchen die tödliche Dosis verabreicht war, beobachtet wurde. In die sonst regelmäßige Atmung traten krampfhafte Zwischenstöße ein (Krampfatmung). Die Tiere vertrugen Seiten- und Rückenlage. War den Tieren die tödliche Dosis gegeben worden, so setzte gegen Ende eine stark verlangsamte, krampfhafte Atmung mit schnappenden Atembewegungen ein. Der Kornealreflex war bei manchen Tieren schon vor dem Atemstillstand nicht mehr auszulösen, während durch Kneifen an den Extremitäten Reflexe immer, bis zum Atemstillstand, hervorgerufen werden konnten. Kurz vor dem Atemstillstand traten Erstickungskrämpfe ein. Nach Aufhören der Atmung schlug das Herz noch minutenlang weiter. Bei den Versuchstieren, welche untertödliche Gaben bekamen, trat die Erholung zögernd ein. Die Vergiftungserscheinungen verschwanden manchmal erst nach 24 und mehr Stunden.

Am Frosch fahndete ich mit Rücksicht auf die beobachteten Lähmungserscheinungen nach einer etwa vorhandenen Kurarewirkung von α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium-chlorid. Benutzt wurde die bei Führer[3]) beschriebene klassische Methode von Claude-Bernard. Der Frosch wurde mit Aether narkotisiert, dann wurde der Nervus ischiadicus unter Vermeidung von Blutungen an einem Bein in möglichst großer Ausdehnung schonend, vor allem ohne jede

[3]) Führer, H.: in Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbtsmeth. Abtl. IV 7 A. Lfg. 67 S. 511.

Zerrung, freipräpariert. Unter dem Nerven wurde ein Baumwollfaden in der Art angelegt, daß dieser mittels Knoten den Oberschenkel fest abschnürte, sodaß die Blutzirkulation in diesem Bein ausgeschaltet wurde. Zwischen den Nervus ischiadicus und das abgeschnürte Bein wurde zur Feuchthaltung ein mit Ringerlösung getränkter Wattebausch gelegt. Danach wurde der Nerv am anderen Bein freipräpariert und ebenfalls zur Feuchthaltung ein mit Ringerlösung getränkter Wattebausch zwischen Nerv und Muskel gebracht. An diesem Bein wurde keine Ligatur gelegt. Dann wurde dem Versuchstier etwa die Hälfte der Dos. let. min. in den Bauchlymphsack gespritzt. Sobald das Tier starke Vergiftungserscheinungen aufwies, wurde 10 Minuten, 20 Minuten und eine halbe Stunde nach der Einspritzung mit faradischen Induktionsströmen der Nervus ischiadicus tetanisch gereizt. Es zeigte sich zu allen drei Zeitpunkten, daß eine Reizung des Nerven sowohl am unterbundenen als auch am nicht unterbundenen Bein möglich war und zwar war die Reizbarkeit beider Nervenstämme bei gleichstarken Strömen gleich stark. Daraus folgt, daß das α-βNaphtho-2,3-diphenyl-triazolium-chlorid keine kurareähnliche Wirkung besitzt.

b) α-β-Naphtho-1,3-Dimethyl-triazoliumverbindung.

Nach parenteraler Zufuhr der α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazoliumverbindung (Chlorid, bezw. Jodid), die teils subkutan, teils intravenös an Fröschen, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen gespritzt wurde, zeigten sich sehr lang anhaltende Vergiftungserscheinungen.

Die α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazoliumverbindung wurde von den Versuchstieren sehr schnell resorbiert, denn die Vergiftungserscheinungen traten auch nach subkutaner Einspritzung rasch (etwa nach 4 Minuten) ein, schon während es bei intravenösen Injektionen, die bei Mäusen binnen einer halben, bei Kaninchen innerhalb einer Minute beendigt waren, schon während der Einspritzung deutliche Vergiftungserscheinungen erzeugte. Zu Anfang trat eine plötzliche Verlangsamung der Atmung ein, wobei die Atemzüge aber unregelmäßiger, kräftiger und tiefer wurden. Die Atmung nahm den Charakter der Krampfatmung an. Die Augen färbten sich dunkler und traten merklich heraus, auch nach subkutanen Einspritzungen. Seiten- und Rückenlage kamen selbst bei Dosen, welche weit unterhalb der tödlichen Dosis lagen, zur Beobachtung. Auch traten klonische Krämpfe in unregelmäßigen Zeitabständen auf. Selbst bei stärkster Benommenheit waren durch Kneifen an den Extremitäten Reflexe sehr leicht auszulösen. Ebenso war der Kornealreflex positiv. Bei der Maus war die Reflexerregbarkeit sogar erhöht. Hatte das Versuchstier intravenös nur soviel von dem α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazoliumsalz gespritzt bekommen, daß nicht gleich nach der Einspritzung Atemstillstand eintrat, so setzte nach der zunächst sehr schweren Atemschädigung mit hochgradiger Frequenzverminderung bald wieder Beschleunigung ein, jedoch blieb die Atmung unregelmäßig und zeigte von Zeit zu Zeit den Charakter der Krampfatmung. Bis zum Ende der Vergiftungserschei-

nungen blieb die Atemfrequenz immer unter der Norm. Diese letzten Symptome waren bis zu 3 Tagen noch zu beobachten. Bei 3 Versuchstieren trat nach 3 Tagen erst Atemstillstand ein, dem plötzlich ausbrechende Krämpfe vorausgingen. Alle Tiere, welche durch das α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium getötet wurden, starben an primärer Atemlähmung; denn die sofort nach dem Atemstillstand vorgenommene Sektion der Tiere zeigte regelmäßig, daß das Herz noch bis zu mehreren Minuten nach dem Atemstillstand schlug.

Um eine Wirkung des α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium am Nervus ischiadicus bei Fröschen festzustellen, wurde die auf Seite 14 und 15 beschriebene Versuchsmethode angewandt und ebenfalls die Hälfte der Dos. let. min. injiziert. Diese Untersuchungen ergaben stets eine gleichstarke Erregbarkeit der beiden Nervenstämme. Das besagt, daß das α-β-Naptho-1,3-dimethyl-triazolium keine kurareähnliche Wirkung besitzt.

c) α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazoliumverbindung.

Versuche an Fröschen, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen zeigten, daß das α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium starke Vergiftungserscheinungen hervorrief. Die Tiere wurden teils subkutan, teils intravenös gespritzt.

Sofort nach der Einspritzung wurde die Atmung sehr langsam, unregelmäßig und krampfhaft. Die Versuchstiere waren stark benommen und vertrugen Rückenlage. Auffallend war auch hier ein Dunklerwerden und Heraustreten der Augen.

Bei den Tieren, welche eine geringere Dosis als die Dos. let. min. eingespritzt bekamen, hielten die Vergiftungserscheinungen bis zu einem Tag an, um dann wieder allmählich zu verschwinden. Extremitätenreflexe und der Kornealreflex waren nach nicht tödlichen Gaben bei ihnen in jeder Phase der Vergiftung auszulösen.

Bekamen die Tiere die tödliche Dosis verabreicht, so war der Kornealreflex kurz vor dem Atemstillstand nicht mehr auszulösen, während Reflexe durch Kneifen der Extremitäten bis zum Tode der Tiere hervorgerufen werden konnten. Kurz vor dem Atemstillstand traten bei den Tieren Schnappatmung und klonische Krämpfe ein. Bei allen Tieren, welche durch α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium getötet wurden, konnte durch sofort vorgenommene Sektion festgestellt werden, daß das Herz nach dem Atemstillstand noch schlug. Der Tod trat also durch primäre Atemlähmung ein.

Um eine etwaige kurareähnliche Wirkung des α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium zu untersuchen, wurden Froschversuche, wie auf Seite 14 und 15 beschrieben, ausgeführt. Diese Versuche ergaben, daß sowohl an dem von der Zirkulation abgeschnittenen als auch an dem nicht unterbundenen Froschschenkel gleichstarke Reize dieselben Reaktionen am Nervus ischiadicus auslösten. Die motorischen Nervenendigungen wurden also durch das α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazolium ebenfalls nicht beeinflußt.

d) 1,2-Dimethyl-benzo-triazoliumverbindung.

Untersuchungen mit dem 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium an Fröschen, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen ergaben bei subkutanen und intravenösen Einspritzungen Vergiftungserscheinungen, welche für alle genannten Tiere charakteristische Symptome aufwiesen.

Es traten sehr schnell, auch nach subkutaner Injektion, toxische Erscheinungen ein, was auf eine schnelle Resorption des Giftes schließen läßt. Sofort nach der Einspritzung traten die Augen deutlich heraus und nahmen eine dunklere Farbe an. Die Tiere waren stark benommen. Rückenlage wurde fast immer vertragen, nur einige Tiere, denen sehr wenig 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium gegeben wurde, konnten nicht zur Rückenlage gebracht werden. Die Atmung wurde gleich nach der Injektion langsamer, vertiefter und zeigte den Typus der Krampfatmung. Mit den klonischen Krämpfen, die sich immer wiederholten, verschlechterte sich die Atmung mehr und mehr.

Wurde den Tieren eine tödliche Dosis gespritzt, so starben sie nach vorangegangener Schnappatmung und klonischen Krämpfen. Bei den Warmblütern (Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen) war außerdem noch starker Speichelfluß zu beobachten, eine Erscheinung, die von den bis jetzt beschriebenen Triazoliumverbindungen nicht hervorgerufen wurde. Kurz vor dem Tode war der Kornealreflex nicht mehr auszulösen, während die Extremitätenreflexe durch Kneifen bis zum Atemstillstand hervorzurufen waren.

Die Vergiftungserscheinungen hielten im Vergleich zu den vorher beschriebenen Triazoliumverbindungen nicht lange an, Tiere mit der Dos. let. min. lebten nur bis zu 25 Minuten nach Beginn der subkutanen Einspritzung.

Bekamen die Tiere weniger als die tödliche Dosis, so verschwanden die Vergiftungserscheinungen nach spätestens 30 Minuten. Bei allen Tieren, welche durch 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium getötet wurden, trat primäre Atemlähmung ein: Das Herz schlug nach dem Atemstillstand noch fast 15 Minuten.

Um eine Wirkung von 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium auf die motorischen Nervenendigungen des Nervus ischiadicus bei Fröschen festzustellen, wurde die auf Seite 14 und 15 beschriebene Versuchsmethode angewandt. Diese Untersuchungen verliefen wie bei den anderen Triazoliumverbindungen negativ und zeigten somit, daß auch das 1,2-Dimethyl-benzotriazolium keine kurareartige Wirkung ausübt.

e) 1,3-Dimethyl-benzo-triazoliumverbindung.

Die vom 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium bei subkutaner, bezw. intravenöser Einspritzung an Fröschen, weißen Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen stimmten mit den durch das 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium erzeugten Symptomen fast überein. Dunkelfärbung und Heraustreten der Augen, später Verschlechterung der Atmung, Schnappatmung, dann klonische Krämpfe, die bis zum Tode anhielten, Tod durch primäre Atemlähmung, waren charakteristische Vergiftungserscheinungen. Erhöhter

Speichelfluß war bei den mit 1,3-Dimethyl-benzo-triazolium geprüften Tieren nicht zu bemerken. Die Wirkung dieses Giftes dauerte etwas länger an. Die Lebensdauer eines Tieres, welches die tödliche Dosis erhalten hatte, betrug von der Einspritzung ab gerechnet noch bis zu 45 Minuten. Die längste Vergiftungsdauer mit etwa einer Stunde wurde an einem Tier, welches etwas weniger als die Dos. let. min. bekommen hatte, beobachtet.

Die Versuche zur Prüfung der Wirkung des 1,3-Dimethyl-benzotriazolium auf den Nervus ischiadicus am Froschschenkel führten zu dem Ergebnis, daß diese Verbindung ebenso wie die anderen Triazoliumverbindungen keine kurareähnliche Wirkung besitzt.

f) Zusammenfassung zu 3a—3e.

Bei einem Vergleich der Wirkungsbilder der 5 Triazoliumverbindungen miteinander läßt sich feststellen, daß durch diese Stoffe Vergiftungserscheinungen hervorgerufen wurden, welche keine allzugroße Verschiedenheit aufwiesen. Bei allen trat als Hauptsymptom Atemschädigung mit nachfolgender primärer Atemlähmung ein. Der Kornealreflex konnte kurz vor dem Atemstillstand nicht mehr ausgelöst werden, während Reflexe durch Kneifen an den Extremitäten bis zum Tode hervorgerufen werden konnten.

Eine kurareähnliche Wirkung konnte bei keiner der 5 Triazoliumverbindungen festgestellt werden.

Die beiden isomeren α-β-Naphtho-dimethyl-triazoliumverbindungen zeigten bei allen Versuchen sehr verwandte Eigenschaften. Die Wirkung dieser beiden Gifte trat auch bei subkutaner Zufuhr sehr schnell ein und hielt lang an. Die Atemfrequenz wurde stark vermindert. Immer war Krampfatmung vorhanden, die sehr plötzlich auftrat. Der Tod trat durch primäre Atemlähmung ein.

Im Gegensatz zu den α-β-Naphtho-dimethyl-triazoliumverbindungen konnte bei den zwei isomeren Dimethyl-benzo-triazoliumverbindungen festgestellt werden, daß die Wirkung zwar auch rasch eintrat, daß aber die Vergiftungserscheinungen nur sehr kurze Zeit dauerten. Keine der Vergiftungen hielt länger als eine Stunde an. Klonische Krämpfe und Dunklerwerden der Augen waren nach Einspritzungen beider Isomeren zu beobachten. Auffallend war der starke Speichelfluß bei Warmblütern nach Einspritzung von 1,2-Dimethyl-benzo-triazolium.

4. Prüfung auf analgetische Wirkung.

Um eine etwaige schmerzbetäubende, morphinähnliche Wirkung der Triazoliumverbindungen festzustellen, wurden Versuche

a) an weißen Mäusen,
b) an Meerschweinchen

ausgeführt, wobei mit verschiedenen Methoden auf eine schmerzbetäubende (analgetische) Wirkung der 5 Triazoliumverbindungen geprüft wurde.

a) an weißen Mäusen:

Bei den Versuchen an weißen Mäusen wurde folgende von Pohle[4]) angegebene und bei seinen Untersuchungen mit verschiedenen Analgetika erfolgreich verwendete Methode benutzt:

Die Mäuse wurden vor jeder Behandlung untersucht, ob sie an der Schnauze gegen Wärme empfindlich waren. Zu dieser Prüfung wurde ein Eisendraht glühend gemacht und in dem Augenblick, wo das Glühen verschwand, in unmittelbare Nähe der Schnauze gebracht, ohne sie jedoch zu berühren. Bei allen zur Untersuchung gelangten Mäusen wurde vor der Einspritzung die beschriebene Reaktion geprüft und stets positiv befunden. Nach dieser Vorprüfung bekamen von den zu untersuchenden Triazoliumverbindungen jedesmal 2 Mäuse etwas mehr als die Hälfte der kleinsten tödlichen Dosis in eine der Schwanzvenen gespritzt. Vergiftungserscheinungen traten sofort nach der Injektion ein. Gleich nach der Einspritzung wurde mit der beschriebenen Methode auf eine etwaige analgetische Wirkung der Triazoliumverbindung geprüft. Die Wärmereizung wurde alle 5 Minuten innerhalb einer halben Stunde wiederholt. Es zeigte sich, daß nach der Zufuhr der Triazoliumverbindungen dieselben Wärmereaktionen auszulösen waren wie vor den Injektionen, nicht einmal eine Abschwächung des Reflexes war zu bemerken. — Die untersuchten 5 Triazoliumverbindungen ließen mithin sämtlich eine analgetische Wirkung nicht erkennen.

b) an Meerschweinchen:

Um dem Einwand zu entgehen, daß die Prüfung auf analgetische Wirkung nur an einer Tierart und mit einer Methode vorgenommen worden sei, führte ich eine zweite Versuchsreihe zur Prüfung einer etwa vorhandenen analgetischen Wirkung mit einer anderen Methode an Meerschweinchen aus.

Dem Meerschweinchen wurde etwas mehr als die Hälfte der kleinsten tödlichen Dosis eines Triazoliumsalzes subkutan in die rechte Flanke gespritzt. Als deutliche Vergiftungserscheinungen vorhanden waren und zwar $^3/_4$ Stunden nach der Einspritzung, bekamen die Tiere 2 ccm 5 %ige Saponinlösung (Saponin. puriss. alb. Merck in Ringerlösung) in die andere Flanke subkutan eingespritzt. Nach dieser zweiten Injektion mußte das Meerschweinchen infolge der starken örtlichen Reizwirkung des Saponins bald sehr unruhig werden und deutliche Schmerzäußerungen von sich geben, wenn das zuerst gespritzte Mittel keine analgetische Wirkung ausübte; die Schmerzäußerungen mußten aber nach der Saponininjektion ausbleiben, wenn das zuerst gegebene Mittel etwa wie Morphin schmerzstillend wirkte.

Es zeigte sich bei diesen an Meerschweinchen ausgeführten Untersuchungen, daß nicht einmal eine Abschwächung, geschweige denn eine Aufhebung der Schmerzempfindung durch die Triazoliumverbindungen bewirkt wurde, und zwar erwiesen sich alle 5 Triazoliumverbindungen als unwirksam.

---

[4]) Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakol. 1931 Bd. 162 S. 865.

Eine analgetische Wirkung ließ sich also für alle 5 Triazoliumverbindungen bei Verwendung von zwei verschiedenen Methoden und zwei verschiedenen Tierarten nicht nachweisen.

III. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Nach den Untersuchungen von Binz hätte man an die Möglichkeit einer morphinähnlichen Wirkung der Triazoliumverbindungen denken können. Die praktisch wertvollste Morphinwirkung ist die Schmerzbetäubung. Leider ließ sich auf experimentellem Wege kein Anhaltspunkt für eine schmerzbetäubende Wirkung finden. Meine Untersuchungen zeigten aber, daß die geprüften Triazoliumverbindungen eine Reihe anderer Wirkungen aufweisen.

Im großen und ganzen besitzen alle 5 Stoffe die gleichen Wirkungsqualitäten. Atemstörung mit Krampfatmung, starke Benommenheit und Lähmung bei Erhaltensein der Reflexe bis kurz vor dem Tode waren regelmäßig zu beobachten, wenn überhaupt eine Wirkung des betreffenden gespritzten Stoffes vorhanden war.

Die Benommenheit und später eintretende Lähmung bei Erhaltensein der Reflexe zeigt den zentralen Angriffspunkt der 5 Triazoliumverbindungen. Eine peripher lähmende Wirkung scheint ihnen allen völlig zu fehlen, denn selbst nach Zufuhr von mehr als der Dos. let. min. blieben die Muskeln direkt und indirekt voll erregbar. Eine kurareartige Wirkung, an die man mit Rücksicht auf die Triazoliumnatur dieser Stoffe hätte denken können, fehlt demnach vollkommen.

In der Wirkungsquantität erwies sich das α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium als die weitaus giftigste Verbindung.

IV. Zusammenfassung.

Folgende 5 Triazoliumverbindungen wurden pharmakologisch untersucht:

α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazoliumchlorid
α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazoliumjodid, bzw. -chlorid
α-β-Naphtho-2,3-dimethyl-triazoliumjodid, bzw. -chlorid
1,2-Dimethyl-benzo-triazoliumjodid, bzw. -chlorid
1,3-Dimethyl-benzo-triazoliumjodid, bzw. -chlorid

Es wurde die Toxizität festgestellt (Dos. let. min. für Frösche, weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen), das Wirkungsbild ermittelt und außerdem auf analgetische Wirkung geprüft.

Durch parenterale Zufuhr wurden die kleinsten tödlichen Dosen festgestellt, welche in Tabelle 2 in g Salz/kg Tier, in g Base kg Tier und endlich in mol Base/kg Tier angegeben sind.

Am giftigsten erwies sich α-β-Naphtho-2,3-diphenyl-triazolium. Bedeutend weniger giftig sind die zwei α-β-Naphtho-dimethyl-triazolium-

verbindungen und noch etwas weniger giftig die beiden Dimethyl-benzo-triazoliumverbindungen. Von den isomeren α-β-Naphtho-dimethyl-triazoliumverbindungen ist das α-β-Naphtho-2,3-dimethyltriazolium etwas giftiger als das α-β-Naphtho-1,3-dimethyl-triazolium, während bei den isomeren Dimethyl-benzo-triazoliumverbindungen kein sichtbarer Unterschied in der Giftigkeit beider Isomeren besteht.

Die Vergiftungserscheinungen traten sehr rasch nach den Injektionen aller 5 Triazoliumverbindungen auf. Sie hielten je nach der Art der geprüften Verbindung kürzer oder länger an.

Atemstörungen wurden von allen Triazoliumverbindungen hervorgerufen. Es trat stets Krampfatmung ein. Die Atmung war teils beschleunigt, teils verlangsamt, immer aber geschädigt. Alle Versuchstiere, die eine tödliche Dosis bekamen, starben an primärer Atemlähmung.

Die Extremitätenreflexe waren bis zum Atemstillstand vorhanden, dagegen war der Kornealreflex bei Tieren, welche die tödliche Dosis bekommen hatten, kurz vor dem Atemstillstand nicht mehr auszulösen.

Eine kurareartige Wirkung konnte bei keiner der fünf Triazoliumverbindungen festgestellt werden.

Eine analgetische Wirkung war bei allen Versuchstieren, selbst bei Einspritzungen großer Dosen der Triazoliumverbindungen, nicht nachweisbar.

Am Schluß meiner Arbeit spreche ich Herrn Professor Dr. med. O. Geßner für die Anregung zu den vorliegenden Untersuchungen und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Schriftenverzeichnis.

1. Zincke:
   Ber. Dtsch. Chem. Ges. **23,** 1315 ff. (1890).

2. Krollpfeiffer:
   Ber. Dtsch. Chem. Ges. **67,** 908 (1934).
   Liebigs Annalen **508,** 39 (1933).
   Liebigs Annalen **515,** 113 (1935).
   Z. Ang. Chem. **47,** 350 (1934).

3. Führer:
   Abderhalden: „Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden“
   Abt. IV. Teil 7 A. Lfg. **67** S. 511.

4. Pohle:
   Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakol. **162,** 685 (1931).

Lebenslauf.

Am 11. Dezember 1912 wurde ich, Hans Erhart Schulze in Mitteldorf i. Erzgeb. als Sohn des Lehrers Karl Schulze und seiner Ehefrau Elsa geb. Görner geboren. Ich besuchte die Deutsche Oberschule zu Stollberg i. Erzgb. und bestand daselbst am 10. März 1932 die Reifeprüfung. Ich widmete mich dann sofort dem Studium der Zahnheilkunde und studierte 4 Semester an der Universität in München. Nach dem 3. Semester bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung. Das 5. Semester studierte ich in Würzburg, vom 6. Semester ab in Halle (Saale) und bestand hier am 11. Dezember 1935 die zahnärztliche Prüfung. Seit Januar 1936 bin ich im hiesigen Pharmakologischen Institut mit der Ausführung der vorliegenden Untersuchungen beschäftigt.

Druck: Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale)
Spezialdruckerei für wissenschaftliche Werke und Dissertationen